

PCT

WELTOORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C07D 259/00, A61K 49/00, C07F 9/6524 // C07M 5:00		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 95/20580
			(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 3. August 1995 (03.08.95)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP95/00124		(81) Bestimmungsstaaten: CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).	
(22) Internationales Anmeldedatum: 13. Januar 1995 (13.01.95)		Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>	
(30) Prioritätsdaten: P 44 03 039.8 28. Januar 1994 (28.01.94) DE			
(71) Anmelder (<i>für alle Bestimmungsstaaten ausser US</i>): SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Müllerstrasse 178, D-13353 Berlin (DE).			
(72) Erfinder; und			
(75) Erfinder/Anmelder (<i>nur für US</i>): SCHUMANN, Herbert [DE/DE]; Weberstrasse 3a, D-12307 Berlin (DE). BÖTTGER, Ulrike [DE/DE]; Hagedornstrasse 41, D-12487 Berlin (DE). GRIES, Heinz [DE/DE]; Helmstedter Strasse 19, D-10717 Berlin (DE). PLATZEK, Johannes [DE/DE]; Clayallee 64, D-14195 Berlin (DE). RADÜCHEL, Bernd [DE/DE]; Gollanczstrasse 132, D-13465 Berlin (DE).			
(74) Gemeinsamer Vertreter: SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT; Müllerstrasse 178, D-13353 Berlin (DE).			

(54) Title: MACROCYCLIC OCTAAZA COMPOUNDS

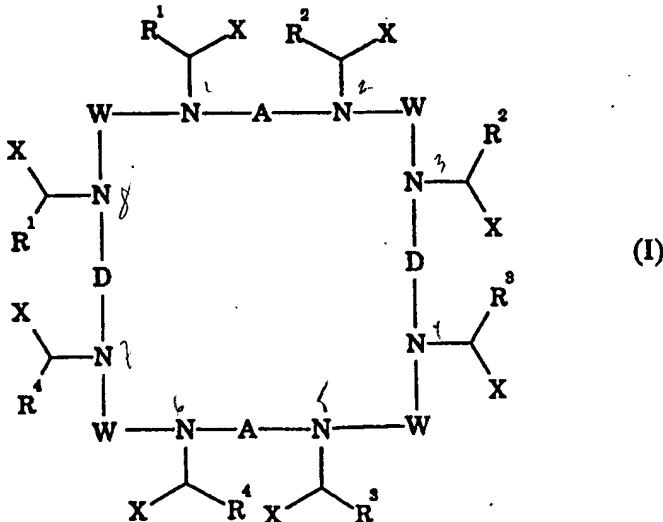
(54) Bezeichnung: OKTAAZAMAKROCYCLEN, DEREN METALLKOMPLEXE SOWIE DEREN VERWENDUNG IN DIAGNOSTIK UND THERAPIE

(57) Abstract

The invention concerns macrocyclic octaaza compounds of general formula (I), in which A, D, W, X, R¹, R², R³ and R⁴ are various groups, their metal complexes, agents containing such complexes and their use in medical diagnosis and therapy. The invention also concerns a method of preparing the macrocyclic octaaza compounds and their complexes.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft Oktaazamakrocyclen der allgemeinen Formel (I), worin A, D, W, X, R¹, R², R³ und R⁴ unterschiedliche Bedeutung haben, deren Metallkomplexe, diese Komplexe enthaltende Mittel sowie die Verwendung dieser in der Diagnostik und Therapie. Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zur Herstellung der Oktaazamakrocyclen und deren Komplexe.



LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Oesterreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasiliens	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

OKTAAZAMAKROCYCLEN, DEREN METALLKOMPLEXE SOWIE DEREN VERWENDUNG IN
DIAGNOSTIK UND THERAPIE.

5 Die Erfindung betrifft den in den Patentansprüchen gekennzeichneten Gegenstand, daß
heißt neue Oktaazamakrocyclen, deren Metallkomplexe, diese Komplexe enthaltende
Mittel sowie die Verwendung dieser in der Diagnostik und Therapie. Die Erfindung
betrifft weiterhin ein Verfahren zur Herstellung der Oktaazamakrocyclen und deren
Komplexe.

10 Für die NMR-Diagnostik mit Kontrastmitteln auf Basis von paramagnetischen Metall-
komplexen sind neben offenkettigen Chelaten - wie Gd-DTPA - auch makrocyclische
Verbindungen vorgeschlagen worden (siehe US 4,647,447). So hat sich beispielsweise
das N-Methylglucaminsalz des Gadoliniumkomplexes der 1,4,7,10-

15 Tetraazacyclododecantetraessigsäure ("Gd-DOTA") als NMR-Kontrastmittel unter dem
Warenzeichen DOTAREM® gut bewährt.

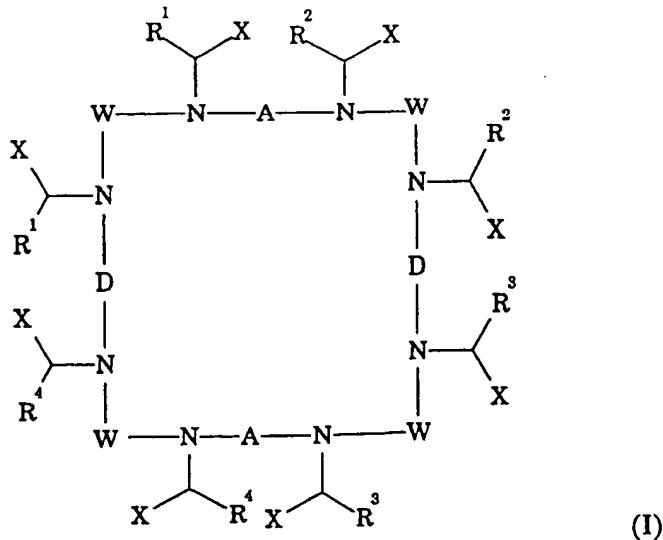
20 Für verschiedene diagnostische Fragestellungen ist es jedoch wünschenswert die
Relaxivität, die als ein Maß für den bildgebenden Effekt in der NMR-Diagnostik
angesehen werden kann, weiter zu steigern. Dadurch wäre eine Dosisreduktion,
insbesondere in Fällen, wo die gegenwärtig eingesetzten Kontrastmittel für einen
ausreichenden bildgebenden Effekt in einer hohen Konzentration verabreicht werden
müssen, möglich.

25 Im Bereich der Röntgendiagnostik gilt es aus vergleichbaren Gründen den
Absorptionskoeffizienten für Röntgenstrahlen zu steigern. So konnten sich
Metallkomplexe im Bereich der Röntgendiagnostik bislang wegen eines zu geringen
Absorptionskoeffizienten nicht durchsetzen.

30 Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es daher, neue Metallkomplexe zur Verfügung
zu stellen, die die Nachteile des Standes der Technik überwinden, daß heißt die bei
gleicher Konzentration einen stärkeren bildgebenden Effekt verursachen und die darüber
hinaus auch die übrigen Anforderungen, die an ein in-vivo Pharmazeutikum zu stellen
sind, erfüllen.

35 Die Aufgabe wird durch die vorliegende Erfindung erfüllt.

Es wurde gefunden, daß Oktaazamakrocyclen der allgemeinen Formel I

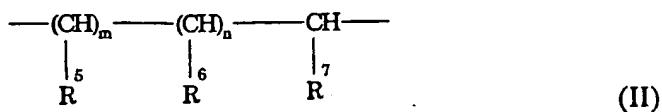


worin

5 R¹, R², R³, R⁴ unabhängig voneinander für ein Wasserstoffatom, einen geradkettigen oder verzweigten C₁-C₁₀ Alkyl- oder Aralkylrest, der gegebenenfalls durch eine Aminogruppe und/oder 1 bis 5 Hydroxygruppen substituiert und/oder durch ein Sauerstoffatom oder eine Iminogruppe unterbrochen ist oder für einen C₆-C₁₂-Aryl- oder Aralkylrest, deren Arylrest gegebenenfalls durch 1 bis 3 Halogenatome oder eine Isothiocyanatgruppe substituiert ist, stehen und

10 X unabhängig voneinander für eine Gruppe -COOH, -COOM, -PO₃H₂, -PO₃HM, -PO₃M₂, -PO₂H-R⁸, oder -PO₂M-R⁸, wobei R⁸ eine C₁-C₁₀ Alkyl- oder Aralkylkette bedeutet und M für ein Metallionenäquivalent oder ein über ein Sauerstoffatom verbrücktes Metallionenäquivalent eines Ions eines Elementes der Ordnungszahlen 21-32, 37-39, 42-51 oder 56-83 steht,

15 A, D und W unabhängig voneinander für einen Rest der Formel II stehen



20 worin

m und n für die Ziffern 0, 1 oder 2 stehen, wobei die Summe aus m und n ≥ 1 ist und R⁵, R⁶, R⁷ unabhängig voneinander die für R¹ angegebene Bedeutung haben, und freie Carbonsäuregruppen gegebenenfalls als Salz einer anorganischen oder organischen Base oder Aminosäure vorliegen, sich überraschenderweise hervorragend in

25

der Diagnostik und Therapie, insbesondere in der NMR- und Röntgen-Diagnostik eignen.

Als Reste R¹, R², R³, R⁴ seien beispielhaft genannt ein Wasserstoffatom, eine Methyl-, 5 Ethyl-, Propyl-, Benzyl-, Methoxy-, Ethoxy-, Hydroxymethyl-, Hydroxyethyl- oder eine Dihydroxypropylgruppe. Bevorzugt sind dabei Verbindungen bei denen R¹, R², R³, R⁴ gleiche Bedeutung haben, darunter insbesondere Verbindungen mit R¹, R², R³, R⁴ in der Bedeutung von Wasserstoff.

10 Als Rest R⁸ sei beispielhaft genannt ein Wasserstoffatom, eine Methyl-, Ethyl-, Propyl-, Benzylgruppe

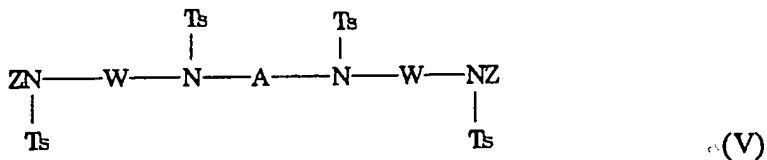
Die Reste A, D und W der Formel I stehen vorteilhafterweise für eine C₂-C₄-Alkylengruppe, insbesondere für eine Ethylen- und/oder eine Propylengruppe, d.h. 15 bevorzugt sind Reste der Formel II worin R⁵, R⁶, R⁷ für ein Wasserstoffatom stehen und bei denen die Summe aus n und m eins oder zwei ist.

Vorzugsweise haben die Reste A und W oder A, W und D identische Bedeutung. Besonders bevorzugt sind ein 1,4,7,10,13,16,19,22-Oktaazacyclotetacosan- oder ein 20 1,4,7,10,14,17,20,23-Oktaazacyclohexacosan-Ringsystem.

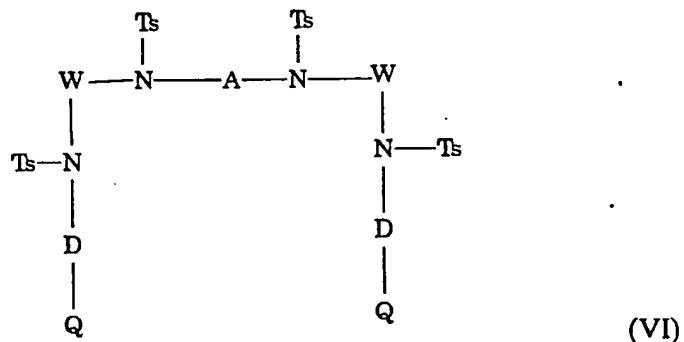
Als Reste X kommen bevorzugt eine Gruppe -COOH und/oder -COOM, mit M in der Bedeutung eines Metallionenäquivalents, infrage. Die Reste X können unabhängig voneinander gewählt werden, bevorzugt sind jedoch Verbindungen, die mindestens ein - 25 bevorzugt jedoch zwei - Metallion(en) eines Elementes der Ordnungszahlen 21-32, 37-39, 42-51 oder 56-83 enthalten. Die Wahl des (der) jeweils geeigneten Metallion(en) richtet sich nach dem jeweiligen Anwendungsgebiet.

Unter einem Sauerstoff-verbrücktem Metallion versteht man eine Gruppe M-O-M 30 [nachfolgend auch als M₂(μ -O) bezeichnet]. Diese Metallatome sind in den erfindungsgemäßen Komplexen an die Carbonsäuregruppen des Komplexbildners gebunden, wobei jedoch eine Ladung jedes Metallions durch das verbrückende Sauerstoffatom kompensiert wird, so daß ein Metallion in der Oxidationsstufe 3+ zur Bindung an den Komplexbildner lediglich zwei Carbonsäuregruppen benötigt.

35 Die Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel I erfolgt in an sich bekannter Weise nach der von J.E. Richmann et al. in J. Am. Chem.Soc. 96 (1974) 2268, beschriebenen Methode, indem man ein Tosylat der Formel V

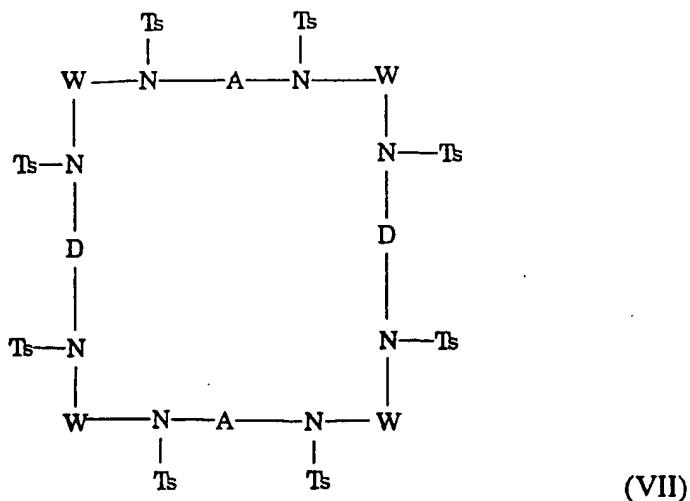


worin W und A die angegebene Bedeutung haben und Z für ein Metallion eines
5 Alkalimetalls, bevorzugt ein Natrium Ion, steht und Ts die Bedeutung einer
Abgangsgruppe, wie z.B. einer Tosylgruppe hat, zunächst mit zwei Äquivalenten einer
Verbindung Hal-D-U umsetzt, worin D die angegebene Bedeutung hat, Hal für ein
Halogenatom bevorzugt für ein Bromatom und U für ein geschütztes Sauerstoffatom,
z.B. für einen THP-Ether steht. Im Anschluß an diese Umsetzung werden in an sich
10 bekannter Weise die Sauerstoffschutzgruppen abgespalten und z.B. mit Mesylchlorid zu
Verbindungen der Formel VI,



15 worin A, W, D und Ts die angegebenen Bedeutungen haben und Q für eine Abgangsgruppe, bevorzugt für eine Gruppe -O-Mesylat steht, umgesetzt. Die Verbindungen der Formel VI werden mit Verbindungen der Formel V zum entsprechenden Makrocyclus der Formel VII umgesetzt

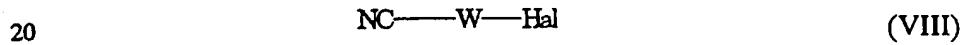
-5-



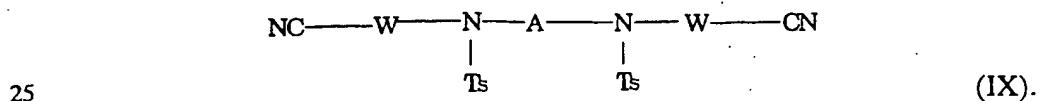
und anschließend in an sich bekannter Weise [siehe z.B. W. Rasshofer et al. in Liebigs Ann. Chem. (1977) 1344] detosyliert. Das erhaltene cyclische Octamin wird dann, wie 5 beispielsweise in der EP 0 287 465 beschrieben, mit Chloressigsäure oder mit Bromessigsäure-tert.-butylester alkyliert. Estergruppen werden, wie in der EP 0 299 795 beschrieben, verseift.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel V mit W und A in gleicher Bedeutung, sind 10 leicht aus den entsprechenden Trialkylentetraminen zugänglich, indem zunächst z.B. mit Tosylchlorid umgesetzt wird und anschließend die verbleibenden aciden Wasserstoffatome der terminalen Aminogruppen mit einem Alkoholat wie z.B. Methanolat metalliert werden.

15 Amine mit A und W in unterschiedlicher Bedeutung sind in der Regel nicht kommerziell zugänglich, können aber leicht erhalten werden, indem zunächst ein entsprechendes Alkylendiamin tosyliert, wie beschrieben metalliert und anschließend mit einem Nitril der Formel VIII, z.B. Bromacetonitril,



mit W und Hal in der angegebenen Bedeutung, zu Verbindungen der Formel IX umgesetzt wird



Die Verbindungen der Formel IX können anschließend in an sich bekannter Weise [siehe J.-M. Lehn et al., *Helv. Chim. Acta* 66 (1983) 1262] z.B. mit Diboran zu den gewünschten Aminen reduziert werden.

- 5 Die erfindungsgemäßen Komplexbildner können in Form ihrer ein- oder mehrkernigen, bevorzugt ihrer zweikernigen Komplexe, mit Metallionen der Ordnungszahlen 21-32, 37-39, 42-51 und 56-83 für diagnostische und radiotherapeutische Zwecke verwendet werden.
- 10 Die Herstellung der erfindungsgemäßen Metallkomplexe erfolgt wie in der DE 34 01 052 offenbart, indem man das Metalloxid oder ein Metallsalz (beispielsweise das Nitrat, Acetat, Carbonat, Chlorid oder Sulfat) des Elements der Ordnungszahlen 21-32, 37, 42-51, 56-83 in Wasser und/oder einem niederen Alkohol (wie Methanol, Ethanol oder Isopropanol) löst oder suspendiert und mit der Lösung oder Suspension der 15 äquivalenten Menge des komplexbildenden Liganden umsetzt und anschließend, falls gewünscht, vorhandene acide Wasserstoffatome durch Kationen anorganischer und/oder organischer Basen oder Aminosäuren substituiert.

Ein Verfahren zur Herstellung zweikerniger Komplexe bei denen die Metallionen, 20 insbesondere Metallionen der seltenen Erden, in einer über ein Sauerstoffatom verbrückter Form vorliegen, besteht darin, daß man die Komplexbildner der Formel I mit X in der Bedeutung einer -COOH Gruppe in einer Ligandenaustauschreaktion gemäß folgender Gleichung umsetzt:



worin Cp für ein Cyclopentadienylanion C_5H_5^- oder ein Cyclopentadienylderivat wie z.B. $\text{C}_5(\text{CH}_3)_5^-$ und H_8L für einen Komplexbildner der allgemeinen Formel I mit X in der Bedeutung von -COOH steht.

30 Die Neutralisation eventuell noch vorhandener freier Säuregruppen erfolgt mit Hilfe anorganischer Basen (zum Beispiel Hydroxiden, Carbonaten oder Bicarbonaten) von zum Beispiel Natrium, Kalium, Lithium, Magnesium oder Calcium und/oder organischer Basen wie unter anderem primärer, sekundärer und tertiärer Amine, wie 35 zum Beispiel Ethanolamin, Morphin, Glucamin, N-Methyl und N,N-Dimethyl-glucamin, sowie basischer Aminosäuren, wie zum Beispiel Lysin, Arginin und Ornithin oder von Amiden ursprünglich neutraler oder saurer Aminosäuren.

Zur Herstellung der neutralen Komplexverbindungen kann man beispielsweise den sauren Komplexsalzen in wäßriger Lösung oder Suspension soviel der gewünschten Basen zusetzen, daß der Neutralpunkt erreicht wird. Die erhaltene Lösung kann anschließend im Vakuum zur Trockne eingeengt werden. Häufig ist es von Vorteil, die gebildeten Neutralsalze durch Zugabe von mit Wasser mischbaren Lösungsmitteln, wie zum Beispiel niederen Alkoholen (Methanol, Ethanol, Isopropanol und andere), niederen Ketonen (Aceton und andere), polaren Ethern (Tetrahydrofuran, Dioxan, 1,2-Dimethoxyethan und andere) auszufällen und so leicht zu isolierende und gut zu reinigende Kristallisate zu erhalten. Als besonders vorteilhaft hat es sich erwiesen, die gewünschte Base bereits während der Komplexbildung der Reaktionsmischung zuzusetzen und dadurch einen Verfahrensschritt einzusparen.

Enthalten die sauren Komplexverbindungen mehrere freie acide Gruppen, so ist es oft zweckmäßig, neutrale Mischsalze herzustellen, die sowohl anorganische als auch organische Kationen als Gegenionen enthalten.

Dies kann beispielsweise geschehen, indem man den komplexbildenden Liganden in wäßriger Suspension oder Lösung mit dem Oxid oder Salz des das Zentralion liefernden Elements und der Hälfte der zur Neutralisation benötigten Menge einer organischen Base umsetzt, das gebildete Komplexsalz isoliert, es gewünschtenfalls reinigt und dann zur vollständigen Neutralisation mit der benötigten Menge anorganischer Base versetzt. Die Reihenfolge der Basenzugabe kann auch umgekehrt werden.

Eine andere Möglichkeit, zu neutralen Komplexverbindungen zu kommen, besteht darin, die verbleibenden Säuregruppen im Komplex ganz oder teilweise in zum Beispiel Ester oder Amide zu überführen. Dies kann durch nachträgliche Reaktion am fertigen Komplex geschehen (z.B. durch erschöpfende Umsetzung der freien Carboxy-Gruppen mit Dimethylsulfat).

Die Herstellung der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel erfolgt ebenfalls in an sich bekannter Weise, indem man die erfindungsgemäßen Komplexverbindungen - gegebenenfalls unter Zugabe der in der Galenik üblichen Zusätze - in wäßrigem Medium suspendiert oder löst und anschließend die Suspension oder Lösung gegebenenfalls sterilisiert. Geeignete Zusätze sind beispielsweise physiologisch unbedenkliche Puffer (wie zum Beispiel Tromethamin). Zusätze von Komplexbildnern (wie zum Beispiel Diethylentriaminpentaessigsäure) oder - falls erforderlich - Elektrolyte wie zum Beispiel Natriumchlorid oder - falls erforderlich - Antioxidantien wie zum Beispiel

Ascorbinsäure oder, insbesondere für orale Darreichungsformen, Mannit oder andere Saccharide.

Zur Verbesserung der Verträglichkeit können die Darreichungsformen Calcium-,

5 Magnesium- oder Zinksalze der Komplexbildner in einer Menge von 0,05 bis 2 mol/l enthalten.

Sind für die enterale Verabreichung oder andere Zwecke Suspensionen oder Lösungen der erfindungsgemäßen Mittel in Wasser oder physiologischer Salzlösung erwünscht, 10 werden sie mit einem oder mehreren in der Galenik üblichen Hilfsstoff(en) (zum Beispiel Methylcellulose, Lactose, Mannit) und/oder Tensid(en) (zum Beispiel Lecithine, Tween ® Myrj ® und/oder Aromastoff(en) zur Geschmackskorrektur (zum Beispiel etherischen Ölen) gemischt.

15 Prinzipiell ist es auch möglich, die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel auch ohne Isolierung der Komplexsalze herzustellen. In jedem Fall muß besondere Sorgfalt darauf verwendet werden, die Chelatbildung so vorzunehmen, daß die erfindungsgemäßen Salze und Salzlösungen praktisch frei sind von nicht komplexierten toxisch wirkenden Metallionen.

20 Dies kann beispielsweise mit Hilfe von Farbindikatoren wie Xylenolorange durch Kontrolltitrationen während des Herstellungsprozesses gewährleistet werden. Die Erfindung betrifft daher auch Verfahren zur Herstellung der Komplexverbindungen und ihrer Salze. Als letzte Sicherheit bleibt eine Reinigung des isolierten Komplexsalzes.

25 Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel enthalten vorzugsweise 0,1 µMol - 1 Mol/l des Komplexsalzes und werden in der Regel in Mengen von 0,1 µMol/kg dosiert. Sie sind zur enteralen und parenteralen Applikation bestimmt. Die erfindungsgemäßen Komplexverbindungen kommen zur Anwendung:

30

1. In der NMR- und Röntgen-Diagnostik in Form ihrer Komplexe mit den Ionen der Elemente mit den Ordnungszahlen 21 - 29, 42, 44 und 57 - 83;
2. in der Radiodiagnostik und Radiotherapie in Form ihrer Komplexe mit den Radioisotopen der Elemente mit den Ordnungszahlen 21-32, 37-39, 42-51 und 35 56-83.

Die erfindungsgemäßen Mittel erfüllen die vielfältigen Voraussetzungen für die Eignung als Kontrastmittel für die Kernspintomographie. So sind sie hervorragend dazu geeignet,

nach oraler oder parenteraler Applikation durch Erhöhung der Signalintensität das mit Hilfe des Kernspintomographen erhaltene Bild in seiner Aussagekraft zu verbessern. Ferner zeigen sie die hohe Wirksamkeit, die notwendig ist, um den Körper mit möglichst geringen Mengen an Fremdstoffen zu belasten, und die gute Verträglichkeit, 5 die notwendig ist, um den nichtinvasiven Charakter der Untersuchungen aufrechtzuerhalten.

Die gute Wasserlöslichkeit und geringe Osmolalität der erfindungsgemäßen Mittel erlaubt es, hochkonzentrierte Lösungen herzustellen, damit die Volumenbelastung des 10 Kreislaufs in vertretbaren Grenzen zu halten und die Verdünnung durch die Körperflüssigkeit auszugleichen. Weiterhin weisen die erfindungsgemäßen Mittel nicht nur eine hohe Stabilität in-vitro auf, sondern auch eine überraschend hohe Stabilität in-vivo, so daß eine Freigabe oder ein Austausch der in den Komplexen nicht kovalent gebundenen - an sich giftigen - Ionen innerhalb der Zeit, in der die neuen Kontrastmittel 15 vollständig wieder ausgeschieden werden, nur äußerst langsam erfolgt.

Im allgemeinen werden die erfindungsgemäßen Mittel für die Anwendung als NMR-Diagnostika in Mengen von 0,0001 - 5 mMol/kg Körpergewicht des erfindungsgemäßen Komplexes, dosiert. Bei einer intravenösen Injektion finden wässrige Formulierungen 20 der Konzentration 50 μ mol/l, vorzugsweise 100 mmol/l bis 1mol/l, Verwendung. Eine rektale sowie orale Anwendung wird vorzugsweise mit Lösungen der Konzentration 0,1 mmol bis 100 mmol/l oder als Feststoff im entsprechenden Konzentrationsbereich durchgeführt. Die applizierten Volumina liegen - je nach diagnostischer Fragestellung - zwischen 5 ml und 2 l. Details der Anwendung werden zum Beispiel in H.J. Weinmann 25 et al., Am. J. of Roentgenology 142, 619 (1984) diskutiert.

Besonders niedrige Dosierungen (unter 1 mg/kg Körpergewicht) von organspezifischen NMR-Diagnostika sind zum Beispiel zum Nachweis von Tumoren und von Herzinfarkt einsetzbar.

30

Ferner können die erfindungsgemäßen Komplexverbindungen vorteilhaft als Suszeptibilitäts-Reagenzien und als Shift-Reagenzien für die in-vivo-NMR-Spektroskopie verwendet werden.

35

Die erfindungsgemäßen Mittel mit Radioisotopen der Elemente der Ordnungszahlen 21-32, 37-39, 42-51 und 56-83 sind aufgrund ihrer günstigen radioaktiven Eigenschaften und der guten Stabilität der in ihnen enthaltenen Komplexverbindungen auch als

Radiodiagnostika geeignet. Details ihrer Anwendung und Dosierung werden z.B. in "Radiotracers for Medical Applications". CRC-Ress, Boca Raton, Florida beschrieben.

Eine weitere bildgebende Methode mit Radioisotopen ist die Positronen-Emissions-
5 Tomographie, die positronenemittierende Isotope wie z.B. ^{43}Sc , ^{44}Sc , ^{52}Fe , ^{55}Co und ^{68}Ga verwendet (Heiss, W.D.; Phelps, M.E.; Positron Emission Tomography of Brain, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1983).

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können auch in der Radioimmuno- oder
10 Strahlentherapie verwendet werden. Diese unterscheidet sich von der entsprechenden Diagnostik nur durch die Menge und Art des verwendeten Isotops. Ziel ist dabei die Zerstörung von Tumorzellen durch energiereiche kurzwellige Strahlung mit einer möglichst geringen Reichweite. Geeignete β -emittierende Ionen sind zum Beispiel ^{46}Sc , ^{47}Sc , ^{48}Sc , ^{72}Ga , ^{73}Ga und ^{90}Y . Geeignete geringe Halbwertzeiten aufweisende α -
15 emittierende Ionen sind zum Beispiel ^{211}Bi , ^{212}Bi , ^{213}Bi und ^{214}Bi , wobei ^{212}Bi bevorzugt ist. Ein geeignetes Photonen- und Elektronen-emittierendes Ion ist ^{158}Gd , das aus ^{157}Gd durch Neutroneneinfang erhalten werden kann.

Ist das erfindungsgemäße Mittel zur Anwendung in der von R.L. Mills et al. [Nature
20 Vol. 336, /1988), S. 787) vorgeschlagenen Variante der Strahlentherapie bestimmt, so muß sich das Zentralion von einem Mößbauer-Isotop wie beispielsweise ^{57}Fe oder
15 ^{151}Eu ableiten.

Die Fluoreszenzeigenschaften, insbesondere der Europium- und Terbium-Komplexe,
25 können für die Nah-Infrarot-Bildgebung genutzt werden.

Bei der in-vivo Applikation der erfindungsgemäßen therapeutischen Mittel können diese zusammen mit einem geeigneten Träger wie zum Beispiel Serum oder physiologischer Kochsalzlösung und/oder zusammen mit einem anderen Protein wie zum Beispiel
30 Human Serum Albumin verabreicht werden. Die Dosierung ist dabei abhängig von der Art der zellulären Störung, dem benutzten Metallion und der Art der Methode, z.B. Brachytherapie.

Die erfindungsgemäßen therapeutischen Mittel werden parenteral, vorzugsweise i.v.
35 appliziert.

Details der Anwendung von Radiotherapeutika werden z.B. in R.W. Kozak et al. TIBTEC, Oktober 1986, 262, diskutiert.

Die erfindungsgemäßen Mittel sind auch hervorragend als Röntgenkontrastmittel geeignet, wobei besonders hervorzuheben ist, daß sich mit ihnen keine Anzeichen der von den jodhaltigen Kontrastmitteln bekannten anaphylaxieartigen Reaktionen in

5 biochemisch-pharmakologischen Untersuchungen erkennen lassen. Besonders wertvoll sind sie wegen der günstigen Absorptionseigenschaften in Bereichen höherer Röhrenspannungen für digitale Subtraktionsmethoden.

Im allgemeinen werden die erfindungsgemäßen Mittel für die Anwendung als

10 Röntgenkontrastmittel in Analogie zu zum Beispiel Meglumin-Diatrizoat in Mengen von 0,1-5 mMol/kg, vorzugsweise 0,25-1 mMol/kg, dosiert.

Details der Anwendung von Röntgenkontrastmitteln werden zum Beispiel in Barke, Röntgenkontrastmittel, G. Thieme, Leipzig (1970) und P. Thurn, E. Bücheler -

15 "Einführung in die Röntgendiagnostik", G. Thieme, Stuttgart, New York (1977) diskutiert.

20 Die erfindungsgemäßen Substanzen erfüllen die vielfältigen Voraussetzungen, die an Kontrastmittel in der modernen Diagnostik zu stellen sind. Die Verbindungen und aus ihnen hergestellte Mittel zeichnen sich aus durch:

- Eine hohe Relaxivität bzw. einen hohen Absorptionskoeffizienten für Röntgenstrahlen,
- eine hohe Wirksamkeit, die notwendig ist, um den Körper mit möglichst geringen Mengen an Fremdstoffen zu belasten,
- eine gute Verträglichkeit,
- eine gute Wasserlöslichkeit,
- geringe Osmolalität,
- günstige Ausscheidungskinetik.

30 Überraschenderweise wird bei den erfindungsgemäßen Komplexen die Relaxivität durch den Einbau zweier paramagnetischer Metallionen synergistisch verstärkt, so daß Komplexe mit hervorragenden bildgebenden Eigenschaften erhalten werden.

35 Weiterhin weisen die erfindungsgemäßen Mittel nicht nur eine hohe Stabilität in vitro auf, sondern auch eine überraschend hohe Stabilität in vivo auf, so daß eine Freigabe oder ein Austausch der in den Komplexen gebundenen Ionen innerhalb der Zeit, in der die neuen Kontrastmittel vollständig wieder ausgeschieden werden, nicht erfolgt.

Dieses gilt nicht nur für die einkernigen sondern überraschenderweise auch für die zweikernigen (bzw. mehr-)kernigen Komplexe. So weisen z.B die für den Europium-Komplex (hergestellt nach Beispiel 1g) gemessenen Redoxpotentiale - die als ein relatives Maß für die Komplexstabilität angesehen werden können - für beide im Komplex

5 befindlichen Metallionen vergleichbare Werte auf.

Insgesamt ist es gelungen, neue Komplexbildner, Metallkomplexe und Metallkomplexsalze zu synthetisieren, die neue Möglichkeiten in der diagnostischen und therapeutischen Medizin erschließen.

10

Die nachfolgenden Beispiele dienen der näheren Erläuterung der Erfindungsgegenstandes, ohne ihn auf diese beschränken zu wollen.

Beispiel 1a) *1,4,7,10,13,16,19,22-Oktaazacyclotetracosan-N,N',N'',N''',N'''',N'''''-oktaessigsäure-tert.-butylester*

5

2,7 g (7,8 mmol) des 1,4,7,10,13,16,19,22-Oktaazacyclotetracosans hergestellt nach A. Bianchi et al., Inorg. Chem. (1985) 24, 1182 werden unter Schutzgas in 20 ml DMF suspendiert und die milchige Suspension in einem Eis-Kochsalz-Kühlbad auf 2,5° C gekühlt. 12,16 g (62,35 mmol) Bromessigsäure-tert.-butylester werden unter Röhren innerhalb von 10 Minuten zugetropft. Es entsteht eine klare, gelbe Lösung. Die Reaktionslösung lässt man auf Raumtemperatur erwärmen und 35 Minuten röhren. 6,6 g (62,35 mmol) wasserfreies Natriumcarbonat werden in 62 ml destilliertem Wasser gelöst und innerhalb von 8 Minuten zur Reaktionslösung zugegeben. Es fällt ein flockiger, weißer Niederschlag aus. Man lässt 35 Minuten röhren, gibt danach 30 ml Toluol zu und lässt weitere 3,5 Stunden röhren. Die Reaktionsmischung wird nach Zugabe von weiteren 50 ml Toluol in einen Schütteltrichter überführt, die Phasen getrennt und die gelblich gefärbte Toluolphase eingeengt. Als Rohprodukt erhält man einen gelblichen Feststoff (75 %ige Ausbeute). Die Reinigung erfolgt mittels Säulenchromatographie auf Kieselgel mit Methylenechlorid und Methanol (10:1) als Laufmittel. Alternativ kann das Produkt durch umkristallisieren aus Methanol/Wasser gereinigt werden. Man erhält die Titelverbindung als weißen Feststoff.

Schmelzpunkt 80-82° C.

Ausbeute: 66 % der Theorie.

Elementaranalyse:

25	Ber.:	C 61,11%	H 9,6%	N 8,9%
	Gef.:	C 60,73%	H 9,64%	N 8,56%

b) *1,4,7,10,13,16,19,22-Oktaazacyclotetracosan-N,N',N'',N''',N'''',N'''''-oktaessigsäure*

30

[nachfolgend als OTEC bezeichnet]

3,58 (2,85 mmol) der Titelverbindung aus 1a) werden in wenig Methylenechlorid gelöst und mit 36 ml Trifluoressigsäure versetzt. Die Lösung wird 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Trifluoressigsäure im Hochvakuum entfernt. Um die freie Oktasäure zu erhalten, wird eine 10 %ige Lösung des Produktes über eine Anionenaustauschersäule (IRA 410) gegeben. Der pH-Wert der Lösung ändert sich von 1,8 auf 3. Die leicht gelblich gefärbte Lösung wird mit Aktivkohle versetzt und 30 Minuten am Rückfluß erhitzt. Die Aktivkohle wird abgetrennt und die Lösung am

Rotationsverdampfer eingeengt. Reste des Lösungsmittels entfernt man am Hochvakuum. Man erhält 1,52 g (64,9 % der Theorie) eines schwach gelblich gefärbten Feststoffes, der laut Analyse 1,68 % Wasser enthält.

5 Elementaranalyse: (berechnet auf wasserfreies Produkt)

Ber.:	C 47,52%	H 6,98%	N 13,85%
Gef.:	C 47,47%	H 7,03%	N 13,48%

10 c) *Zweikern-Mangan(II)-Komplex von OTEC*

0,404 g (0,49 mmol) der Titelverbindung aus 1b) werden in 29 ml entionisiertem Wasser gelöst und 116,8 mg (0,98 mmol) Mangan(II)-carbonat zugegeben. Die Suspension wird auf 80 °C am Rückfluß erwärmt. Bereits nach einer Stunde erhält man 15 eine klare, gelbe Lösung. Nach zweistündigem Erwärmen wird die Lösung eingeengt und man erhält in quantitativer Ausbeute einen hellgelben Feststoff, der bis 250 °C stabil ist und sich erst bei höheren Temperaturen bräunlich verfärbt und zersetzt. Die Verbindung enthält 9,85 % Wasser.

20 Elementaranalyse: (berechnet auf wasserfreies Produkt)

Ber.:	C 42,02%	H 5,73%	N 12,25%	Mn 12,01%
Gef.:	C 41,84%	H 5,54%	N 12,02%	Mn 12,02%

25 d) *Einkern-Gadolinium(III)-Komplex von OTEC*

0,315 g (0,383 mmol) der Titelverbindung aus 1b) werden in 20 ml entionisiertem Wasser gelöst und 69,3 mg (0,191 mmol) Gadolinium(III)oxid zugegeben. Die Suspension wird unter Rühren auf 80 °C am Rückfluß erhitzt. Nach kurzer Zeit erhält 30 man eine klare, gelbliche Lösung. Nach zwei Stunden lässt man die Lösung abkühlen und entfernt das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer bzw. Hochvakuum. Man erhält in quantitativer Ausbeute einen gelblich gefärbten Feststoff, der 5,6 % Wasser enthält.

Elementaranalyse:

35 Ber.:	C 39,9%	H 5,54%	N 11,6%
Gef.:	C 39,48%	H 5,55%	N 11,88%

e) *Zweikern-Gadolinium(III)-Komplex von OTEC*

Zu 0,5 g (0,62 mmol) der Titelverbindung aus 1b) gelöst in 30 ml entionisiertem Wasser werden 224,7 mg (0,62 mmol) Gadolinium(III)oxid gegeben. Die Suspension wird unter 5 Rühren auf 80°C am Rückfluß erhitzt. Nach zwei Stunden läßt man die klare, gelbliche Lösung abkühlen, filtriert gegebenenfalls von ungelöstem Gadoliniumoxid ab und entfernt das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer bzw. Vakuum. Man erhält in quantitativer Ausbeute einen gelblich gefärbten Feststoff, der 2,9 % Wasser enthält.

10 Elementaranalyse: (berechnet auf wasserfreies Produkt)

Ber.:	C 35,65 %	H 4,75 %	N 9,82 %
Gef.:	C 35,55 %	H 4,82 %	N 9,64 %

15 f) *Einkern-Europium(III)-Komplex von OTEC*

Verwendet man anstelle von Gadoliniumoxid im Beispiel 1d) Europiumoxid, so erhält man die Titelverbindung praktisch in quantitativer Ausbeute.

20 Elementaranalyse: (berechnet auf wasserfreies Produkt)

Ber.:	C 40,12 %	H 5,58 %	N 11,70 %
Gef.:	C 39,98 %	H 5,61 %	N 11,81 %

25 g) *Zweikern-Europium(III)-Komplex von OTEC*

Verwendet man anstelle von Gadoliniumoxid im Beispiel 1e) Europiumoxid, so erhält man die Titelverbindung praktisch in quantitativer Ausbeute.

30 Elementaranalyse: (berechnet auf wasserfreies Produkt)

Ber.:	C 34,73 %	H 4,55 %	N 10,12 %
Gef.:	C 34,65 %	H 4,60 %	N 10,15 %

h) *Einkern-Ytterbium(III)-Komplex von OTEC*

Zu 0,5 g (0,620 mmol) der Titelverbindung aus 1b) gelöst in 30 ml entionisiertem Wasser werden 0,163 g (0,310 mmol) Ytterbium(III)carbonat gegeben. Die Suspension

5 wird unter Rühren zwei Tage am Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die klare, nahezu farblose Lösung wird nach dem Erkalten filtriert, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält in quantitativer Ausbeute einen schwach gelblich gefärbten Feststoff, der 3,4 % Wasser enthält.

10 10 Elementaranalyse: (berechnet auf wasserfreie Verbindung)

Ber.: C 39,26 % H 5,46 % N 11,45%

Gef.: C 39,10 % H 5,55 % N 11,61 %

15 15 i) *Zweikern-Ytterbium(III)-Komplex von OTEC*

0,5 g (0,620 mmol) der Titelverbindung aus 1b) werden - analog zum Beispiel 1h) - mit 0,326 g (0,620 mmol) Ytterbium(III)carbonat umgesetzt. Man erhält die

20 Titelverbindung in quantitativer Ausbeute als schwach gelblich gefärbten Feststoff, der 5,6 % Wasser enthält.

Elementaranalyse: (berechnet auf wasserfreie Verbindung)

Ber.: C 34,70 % H 4,62 % N 9,52 %

Gef.: C 34,58 % H 4,60 % N 9,43 %

25

Beispiel 2a) *3-Brom-1-propyl-THP-ether*

30

238,5 g (1,72 mol) 3-Brom-1-propanol werden mit 6,2 g (0,0326 mol) p-Toluolsulfinsäure versetzt und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Unter Rühren werden 151,42 g (1,72 mol) Dihydropyran langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Anschließend werden

35 250 ml Wasser zugegeben, die Lösung in einen Scheidetrichter überführt und das Produkt mit Diethylether ausgeschüttelt. Die organische Phase wird zunächst am Rotationsverdampfer eingeengt und das Produkt im Hochvakuum destilliert (Kp.: 60 °C/6 mbar).

Man erhält 325,4 g (85 % der Theorie) einer farblosen, viskosen Flüssigkeit.

Elementaranalyse:

Ber.:	C 43,07%	H 6,80%
5 Gef.:	C 42,98%	H 6,77%

b) *4,7,10,13-Tetrakis(p-tolylsulfonyl)-4,7,10,13-tetraazahexadecan-1,16-di-THP-ether*

10 134,5 g (0,165 mol) des Dinatriumsalzes des 4,7,10,13-Tetrakis(p-tolylsulfonyl)-4,7,10,13-tetraazadecans, [hergestellt nach A. Bianchi et al., Inorg. Chem. 24 (1985) 1182] werden in 650 ml wasserfreiem DMF unter Schutzgas und Röhren gelöst und auf 100 °C erwärmt. 73,3 g (0,328 mol) des THP-Ethers (Titelverbindung aus 2a) werden langsam innerhalb von drei Stunden zugetropft. Nach beendeter Reaktion wird ein
 15 Drittel des Lösungsmittels unter reduziertem Druck abdestilliert und die Restlösung mit 200 ml Wasser versetzt. Nach Zugabe von Methylenchlorid wird die organische Phase mehrfach mit Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wird zunächst am Rotationsverdampfer eingeengt und noch enthaltenes DMF anschließend im Hochvakuum entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird aus Methanol umkristallisiert.
 20 Man erhält 103,7 g (60 % der Theorie) einer weißen Festsubstanz.

Elementaranalyse:

Ber.:	C 57,68%	H 6,73%	N 5,30%
Gef.:	C 58,21%	H 6,59%	N 5,33%

25

c) *4,7,10,13-Tetrakis(p-tolylsulfonyl)-4,7,10,13-tetraazahexadecan-1,16-diol*

243,6 g (0,232 mol der Titelverbindung aus 2b) werden in 1,5 l Methanol suspendiert.
 30 Es werden 5,2 g des Kationenaustauschers Amberlyst H 15 zugegeben und die Suspension unter Röhren am Rückfluß erhitzt. Nach ca. 2 Stunden erhält man eine klare Lösung, nach weiteren zwei Stunden fällt das Produkt aus der siedenden Reaktionslösung aus. Man lässt erkalten, filtriert vom Lösungsmittel, löst das Produkt in Methylenchlorid und filtriert vom Ionenaustauscher ab. Nach Entfernen des
 35 Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhält man 148,13 g (73 % der Theorie) der Titelverbindung in Form eines weißen Feststoffes.

Elementaranalyse:

Ber.:	C 54,65%	H 6,19%	N 6,37%
Gef.:	C 54,06%	H 6,19%	N 6,27%

5 d) *4,7,10,13-Tetrakis(p-tolylsulfonyl)-4,7,10,13-tetraazahexadecan-1,16-dimesylat*

148,13 g (0,168 mol) der Titelverbindung aus 2c werden in 825 ml Methylenchlorid und 55 ml Triethylamin gelöst. Die Lösung wird zur Entfernung von Wasserspuren über Nacht über aktiviertem Molsieb 4 Å aufbewahrt. Die gerührte Lösung wird in einem 10 Trockeneis-Aceton-Kältebad auf eine Temperatur von -15 °C bis -20 °C gebracht. Innerhalb von 10 Minuten werden 48,25 g (0,42 mol) Mesylchlorid zugetropft. Das Trockeneisbad wird durch ein Eisbad ersetzt und weitere 30 Minuten gerührt. Die Lösung wird in eine Mischung aus 550 ml Eis und 275 ml 10 %iger HCl gegossen und geschüttelt. Die Phasen werden getrennt, die organische Phase mehrmals mit Wasser 15 und abschließend mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen und über Natriumsulfat oder Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels erhält man 156,5 g (90 % der Theorie) eines weißen Feststoffes.

Elementaranalyse:

20 Ber.:	C 48,72%	H 5,65%	N 5,41%
Gef.:	C 49,8%	H 5,56%	N 5,18%

25 e) *1,4,7,10,13,17,20,23-Oktakis(p-tolylsulfonyl)-4,7,10,13,17,20,23-oktaazahexacosan*

107,37 g (0,136 mol) des Dinatriumsalzes des 4,7,10-Tetrakis(p-tolylsulfonyl)-4,7,10-tetraazahexadecans (hergestellt nach A. Bianchi et al., ibid) werden in 1140 ml DMF unter Schutzgas und Rühren gelöst. Die Lösung wird auf 100 °C erhitzt. Die Titelverbindung aus 2d) wird in 480 ml DMF gelöst und unter Beibehaltung der 30 Reaktionstemperatur innerhalb von drei Stunden langsam zugetropft. Danach lässt man weitere 30 Minuten bei 100 °C rühren. Nach Wegnahme der Heizquelle werden 480 ml Wasser zugegeben. Man lässt abkühlen, über Nacht röhren und nach etwa zweistündigem Kühlen mit Eis-Kochsalzmischung wird das als weißer Feststoff ausgefallene Produkt 35 filtriert. Das Produkt wird mehrmals mit Wasser-Ethanol-Mischung gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Man erhält 145,3 g (71 % der Theorie).

Elementaranalyse:

Ber.:	C 55,34%	H 5,63%	N 6,81%
-------	----------	---------	---------

Gef.: C 55,22% H 6,39% N 6,78%

f) *1,4,7,10,13,17,20,23-Oktaazacyclohexacosan*

5

78,4 g (48,4 mmol) der Titelverbindung aus 2e) werden in 190 ml konz. Schwefelsäure eingetragen und vier Tage bei 100 °C unter Schutzgas gerührt. Man kühlt auf 0 °C und tropft 500 ml absoluten Diethylether zu. Das Produkt wird als Hydrosulfat in Form eines grauen, hygroskopischen Salzes gefällt, das man filtriert, mit absolutem

10 Diethylether/Methanol wäscht und im Hochvakuum trocknet.

Ausbeute: 72 g Hydrosulfat.

Das Hydrosulfat wird anschließend in Wasser gelöst, so daß eine 10 %ige klare Lösung entsteht (nicht lösliche Anteile werden abgetrennt). Die Lösung wird unter pH-Kontrolle 15 zunächst mit 500 ml des Anionenaustauschers IRA 410 unter Rühren behandelt. Die Prozedur wird nach Abtrennen vom Ionenaustauscher wiederholt, bis sich der pH-Wert zwischen 10 und 11 befindet. Die leicht gelbliche, klare Lösung wird eingedampft. Man erhält das Amin als weißen Feststoff, der aus Essigsäureethylester umkristallisiert wird. Ausbeute: 9 g (50 % der Theorie)

20

Elementaranalyse:

Ber.: C 58,02% H 11,90% N 30,07%

Gef.: C 58,29% H 11,80% N 29,17%

25

g) *1,4,7,10,13,17,20,23-Oktaazacyclohexacosan-N,N',N'',N'',N''',N''''-oktaessigsäure-tert.-butylester*

2,64 g (7,09 mmol) der Titelverbindung aus 2 f) werden in 20 ml DMF unter Schutzgas 30 und Rühren suspendiert und in einem Eis-Kochsalz-Kühlbad auf 2,5 °C gekühlt. 11,622 g (56,71 mmol) Bromessigsäure-tert.-butylester werden innerhalb von 10 Minuten zugetropft. Die Reaktionslösung wird auf Raumtemperatur erwärmt und 35 Minuten gerührt. 6,01 g (56,71 mmol) wasserfreies Natriumcarbonat werden in 60 ml Wasser gelöst und innerhalb von 8 Minuten zugegeben. Die Reaktionsmischung wird weitere 30 Minuten gerührt. Man gibt 30 ml Toluol hinzu und läßt weitere 3,5 Stunden röhren. Die Reaktionsmischung wird in einen Scheidetrichter überführt, die Phasen werden getrennt 35 und die Toluolphase eingeengt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie

auf Kieselgel mit Methylenechlorid-Methanol (10:1) als Laufmittel gereinigt. Man erhält 2,28 g (25 % der Theorie) eines gelben, viskosen Öls.

Elementaranalyse:

5	Ber.:	C 61,65%	H 9,72%	N 8,71%
	Gef.:	C 60,73%	H 9,64%	N 8,56%

10 h) *1,4,7,10,14,17,20,23-Oktaazacyclohexacosan-N,N',N'',N'',N''',N''''-oktaessigsäure*
[nachfolgend als OHEC bezeichnet]

15 2,28 g (1,7 mmol) der Titelverbindung aus 2g) werden in 23 ml Trifluoressigsäure gelöst und 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Trifluoressigsäure wird im Ölpumpenvakuum entfernt, der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer eingeengt. Diese Prozedur wird mehrmals wiederholt. Der Feststoff wird in einer 10 %igen, wäßrigen Lösung über eine Anionenaustauschersäule (IRA 410) gegeben. Der pH-Wert der Endlösung liegt bei 3. Die Lösung wird mit Aktivkohle versetzt und eine Stunde am Rückfluß erhitzt. Man filtriert die erkaltete Lösung und dampft im Vakuum ein. Man erhält 1,02 g (66,23 % der Theorie) eines schwach gelblich gefärbten Feststoffes, welcher laut Analyse 2,69 % Wasser enthält.

Elementaranalyse: (berechnet auf wasserfreies Produkt)

25	Ber.:	C 48,79%	H 7,22%	N 13,39%
	Gef.:	C 47,52%	H 6,84%	N 13,91%

i) *Zweikern-Gadoliniumkomplex von OHEC*

30 0,4 g (0,48 mmol) der Titelverbindung aus 2h) werden mit 0,173 g (0,48 mmol) Gadoliniumoxid in 40 ml Wasser suspendiert und unter Rühren 3 Stunden bei 80 °C am Rückfluß erhitzt. Die Lösung wird filtriert und im Vakuum getrocknet. Man erhält quantitativ 0,5 g eines gelblich gefärbten Feststoffes, der 1,6 % Wasser enthält.

35 Elementaranalyse: (berechnet auf wasserfreies Produkt)

Ber.:	C 35,65%	H 4,75%	N 9,82%
Gef.:	C 35,83%	H 4,95%	N 9,37%

j) *Einkern-Europium(III)-Komplex von OHEC*

0,5 g (0,597 mmol) der Titelverbindung aus 2 h werden mit 0,105 g (0,298 mmol) Europiumoxid in 40 ml entionisiertem Wasser gelöst und in analoger Weise zum 5 Beispiel 2 i) umgesetzt. Man erhält die Titelverbindung in praktisch quantitativer Ausbeute als gelblich gefärbten Feststoff, der 1,83 % Wasser enthält.

Elementaranalyse: (berechnet auf wasserfreie Verbindung)

Ber.:	C 41,42 %	H 5,83 %	N 11,37 %
10 Gef.:	C 41,13 %	H 5,97 %	N 11,42 %

k) *Zweikern-Europium(III)-Komplex von OHEC*

15 0,5 g (0,597 mmol) der Titelverbindung aus 2h werden - analog zu Beispiel 2i) - mit 0,210 g (0,597 mmol) Europiumoxid umgesetzt. Man erhält die Titelverbindung in nahezu quantitativer Ausbeute.

Elementaranalyse: (berechnet auf wasserfreie Verbindung)

20 Ber.:	C 35,99 %	H 4,80 %	N 9,87 %
Gef.:	C 35,83 %	H 4,83 %	N 10,07 %

l) *Einkern-Ytterbium(III)-Komplex von OHEC*

25 0,5 g (0,597 mmol) der Titelverbindung aus 2 h werden mit 0,157 g (0,298 mmol) Ytterbium(III)carbonat in 40 ml entionisiertem Wasser suspendiert und unter Rühren zwei Tage am Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die klare, fast farblose Lösung wird nach Abkühlen filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält 30 die Titelverbindung in quantitativer Ausbeute als ein schwach gelb gefärbtes Pulver mit einem Wassergehalt von 9,31 %.

Elementaranalyse: (berechnet auf wasserfreie Verbindung)

Ber.:	C 40,55 %	H 5,71 %	N 11,13 %
Gef.:	C 40,51 %	H 5,76 %	N 11,09 %

5

m) *Zweikern-Ytterbium(III)-Komplex von OHEC*

Analog zu Beispiel 2 l) werden 0,5 g (0,597 mmol) der Titelverbindung aus 2 h) mit 0,314 g (0,597 mmol) Ytterbium(III)carbonat umgesetzt. Man erhält die 10 Titelverbindung in quantitativer Ausbeute als leicht gelb gefärbtes Pulver mit einem Wassergehalt von 12,2 %.

Elementaranalyse: (berechnet auf wasserfreie Verbindung)

Ber.:	C 34,70 %	H 4,62 %	N 9,52 %
Gef.:	C 34,75 %	H 4,60 %	N 9,49 %

Beispiel 3

20 a) *Sm₂-(μ-O)-Komplex von (OTEC)*

In einer Glovebox werden 1 g (1,24 mmol) OTEC (hergestellt nach Beispiel 1b)) in 50 ml einer entgasten wäßrig-ethanolischen Lösung unter Rühren aufgelöst und die Lösung in einem Eisbad gekühlt. 0,73 g der Verbindung [(C₅Me₅)₂Sm₂-(μ-O)] [hergestellt nach J. Evans et al., *J. Am. Chem. Soc.* 107 (1985) 405-409] werden in 25 10 ml absolutiertem THF unter Rühren gelöst. Mittels eines Septums wird nacheinander je 1 ml der THF-Lösung entnommen und vorsichtig zur Lösung des Liganden unter kräftigem Rühren zugetropft. Nach beendeter Zugabe lässt man auf Raumtemperatur erwärmen und über Nacht rühren. Dann wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der leicht gelbliche Rückstand 24 h am Hochvakuum 30 getrocknet. Der erhaltene Feststoff kann aus wäßrig-ethanolischer Lösung umkristallisiert werden. Man erhält 0,84 g eines schwach gelblich gefärbten Pulvers (60,5 % der Theorie), welches sich oberhalb von 300°C zersetzt.

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Verbindung):

35 Ber.:	C 34,33%	H 4,50%	N 10,00%	Sm 26,87%
Gef.:	C 34,56%	H 4,73%	N 10,01%	Sm 26,53%

b) *Sm₂-(μ-O)-Komplex von (OHEC)*

In einer Glovebox wird 1 g (1,19 mmol) OHEC (hergestellt nach Beispiel 2h)) in 50 ml einer wäßrig-ethanolischen Lösung unter Rühren aufgelöst. 0,688 g (1,19 mmol) [(C₅Me₅)Sm₂-(μ-O)] [hergestellt nach J. Evans et al., *J. Am. Chem. Soc.* 107 (1985) 405-409] werden in 10 ml absolutem THF unter Rühren gelöst. Die Umsetzung erfolgt analog zu Beispiel 3a). Nach Umkristallisieren erhält man 0,80 g (57,9% der Theorie) eines schwach gelblich gefärbten Feststoffes, der sich oberhalb von 300°C zersetzt.

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Verbindung)

10	Ber.: C 35,58%	H 4,74%	N 9,76%	Sm 26,20%
	Gef.: C 35,10%	H 4,89%	N 9,63%	Sm 25,97%

c) *Ru₂-(μ-O)-Komplex von OTEC*

15 Analog zu der von J.V. Dubrawski und A.A. Diamantis [*Inorg. Chem.*, 20 (1981) 1142] und N.A. Ezerskaya und T.P. Solovykh [*Zh. Neorg. Khim.*, 11 (1966) 1855] beschriebenen Weise, werden zunächst 0,5 g (0,620 mmol) OTEC [hergestellt nach Beispiel 1b)] werden in 15 ml entionisiertem Wasser gelöst und mit 24,5 ml 0,1 N NaOH versetzt. Die Lösung wird 30 min gerührt und danach das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das als weißes Pulver erhaltene Natriumsalz von OTEC wird in 10 ml einer 0,001 N HClO₄ gelöst, auf 80°C erhitzt und zu einer warmen Lösung aus 0,463 g (1,236 mmol) K₂[RuCl₅ · H₂O] und 10 ml 0,001 N HClO₄ gegeben. Die Reaktionslösung wird 30 min unter Rühren am Rückfluß erhitzt und 20 danach auf einem Wasserbad auf 1/3 des Volumens eingeengt. Der nach dem Abkühlen ausgefallene gelbe Niederschlag wird abfiltriert und mit kaltem Wasser und Ethanol gewaschen.

25 0,5 g des so hergestellten Zwischenproduktes werden in 15 ml entionisiertem Wasser gelöst und 1 h in Gegenwart von 0,197 g (2,5 mmol) AgNO₃ am Rückfluß erhitzt. Die Lösung färbt sich schwarzbraun. Nach Abkühlen und einengen der Lösung auf wenige Milliliter fällt die oxoverbrückte Titelverbindung als ein schwarzbrauner Feststoff aus. Dieser wird abfiltriert, mit kaltem Wasser und Ethanol gewaschen und im Vakuum 30 getrocknet. Man erhält 0,237 g (50 % der Theorie) der Titelverbindung als schwarzbraunes Pulver.

Elementaranalyse:

Ber.:	C 37,57 %	H 5,12 %	N 10,95 %
Gef.:	C 37,62 %	H 5,16 %	N 10,89 %

5

Beispiel 4*Natrium-Salz des Zweikern-Gadolinium(III)-Mangan(II)-Komplexes von OTEC*

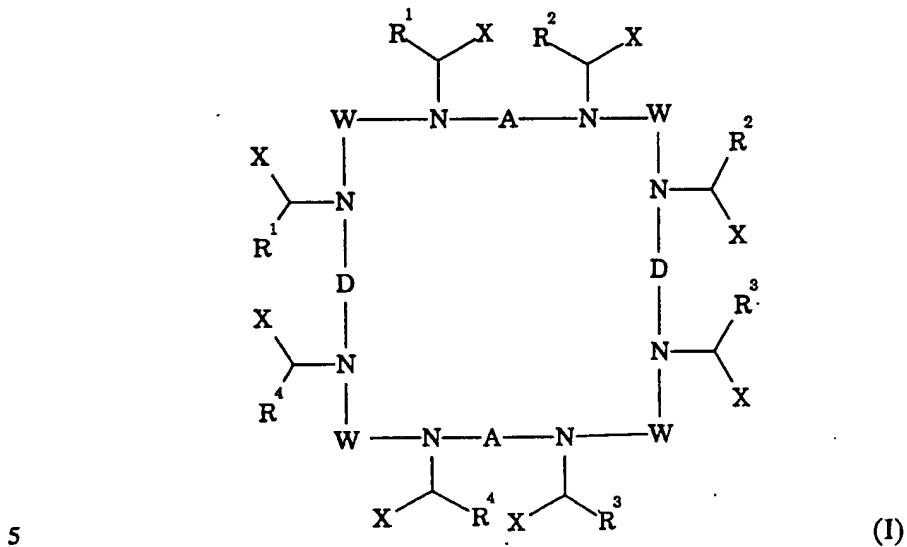
10 1 g (1,23 mmol) OTEC (Titelverbindung aus Beispiel 1 b) werden in 10 ml entionisiertem Wasser gelöst und mit 0,22 g (0,603 mmol) Gadoliniumoxid versetzt. Die Suspension wird eine Stunde bei 90-100 °C gerührt. Man erhält eine klare Lösung, die mit 1,23 mmol Natronlauge und 0,14 g (1,23 mmol) Mangan(II)carbonat (96 %ig) versetzt wird. Man röhrt eine weitere Stunde bei 90 °C, wobei sich eine nahezu klare
15 Lösung bildet. Man filtriert über ein 0,1 μm Membranfilter und isoliert die Titelverbindung durch eine Gefriertrocknung. Man erhält 1,1 g als weißes Pulver mit einem Wassergehalt von 5,7 %.

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreies Produkt):

Ber.:	C 37,03 %	H 4,86 %	N 0,80 %	Gd 15,15 %	Mn 5,29 %	Na 2,22 %
Gef.:	C 37,62 %	H 5,16 %	N 10,89 %	Gd 14,88 %	Mn 5,38 %	Na 2,60 %

Patentansprüche

1. Oktaazamakrocyclen der allgemeinen Formel I

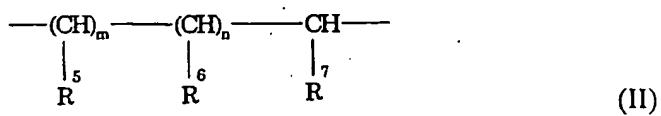


worin

R¹, R², R³, R⁴ unabhängig voneinander für ein Wasserstoffatom, einen geradkettigen oder verzweigten C₁-C₁₀ Alkyl- oder Aralkylrest, der gegebenenfalls durch eine Aminogruppe und/oder 1 bis 5 Hydroxygruppen substituiert und/oder durch ein Sauerstoffatom oder eine Iminogruppe unterbrochen ist oder für einen C₆-C₁₂-Aryl- oder Aralkylrest, deren Arylrest gegebenenfalls durch 1 bis 3 Halogenatome oder eine Isothiocyanatgruppe substituiert ist, stehen und

X unabhängig voneinander für eine Gruppe -COOH, -COOM, -PO₃H₂, -PO₃HM, -PO₃M₂, -PO₂H-R⁸, oder -PO₂M-R⁸, wobei R⁸ eine C₁-C₁₀ Alkyl- oder Aralkylkette bedeutet und M für ein Metallionenäquivalent oder ein über ein Sauerstoffatom verbrücktes Metallionenäquivalent eines Ions eines Elementes der Ordnungszahlen 21-32, 37-39, 42-51 oder 56-83 steht,

A, D und W unabhängig voneinander für einen Rest der Formel II stehen



worin

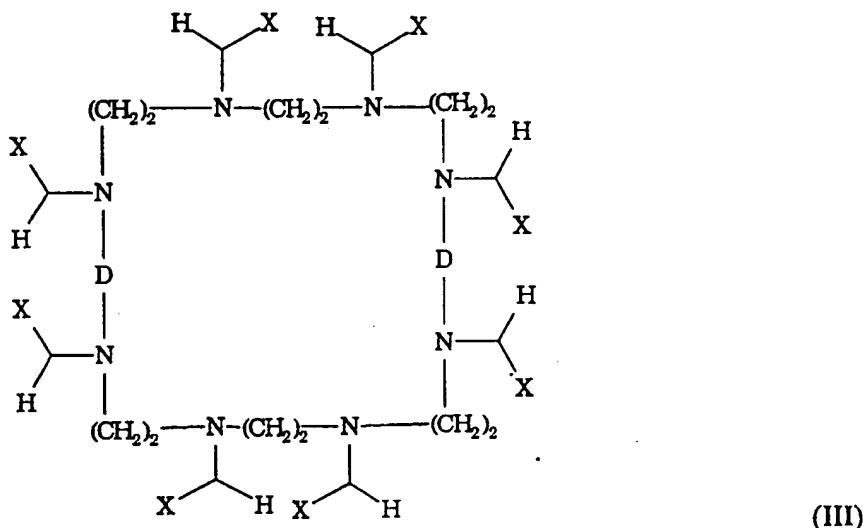
m und n für die Ziffern 0, 1 oder 2 stehen, wobei die Summe aus m und n ≥ 1 ist und

5 R⁵, R⁶, R⁷ unabhängig voneinander die für R¹ angegebene Bedeutung haben,

und freie Carbonsäuregruppen gewünschtenfalls als Salz einer anorganischen oder organischen Base oder Aminosäure vorliegen.

2. Verbindungen nach Anspruch 1 der Formel III

10



worin

15 X unabhängig voneinander für eine Gruppe -COOH oder -COOM wobei M für ein Metallionenäquivalent eines Ions eines Elementes der

Ordnungszahlen 21-32, 37-39, 42-51 oder 56-83 steht und

D für einen Rest der allgemeinen Formel II steht, worin

20 m die Ziffern 0 oder 1,

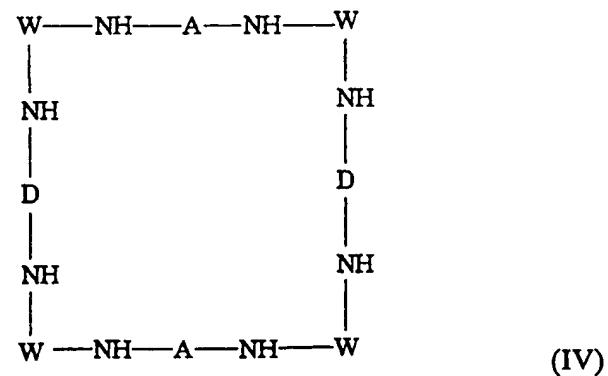
n die Ziffer 1 und

R⁵, R⁶, R⁷ ein Wasserstoffatom bedeutet und

freie Carbonsäuregruppen gewünschtenfalls als Salz einer anorganischen oder organischen Base oder Aminosäure vorliegen, wobei in der Verbindung mindestens ein Metallion enthalten ist.

25 3. Verbindung der Formel III enthaltend zwei Metallionen eines Elementes der Ordnungszahlen 21-32, 37-39, 42-51 oder 56-83.

4. Verbindung nach Anspruch 1, nämlich der Di-Gadoliniumkomplex der 1,4,7,10,13,16,19,22-Octaazacyclotetraacosan-N, N', N'', N''', N'''', N''''', N''''''-octaessigsäure.
5. Verbindung nach Anspruch 1, nämlich der Di-Gadoliniumkomplex der 1,4,7,10,14,17,20,23-Octaazacyclohexacosan-N, N', N'', N''', N'''', N''''', N''''''-octaessigsäure.
6. Verbindung nach Anspruch 1, nämlich der Di-Ytterbiumkomplex der 1,4,7,10,13,16,19,22-Octaazacyclotetraacosan-N, N', N'', N''', N'''', N''''', N''''''-octaessigsäure.
7. Verbindung nach Anspruch 1, nämlich der Di-Ytterbiumkomplex der 1,4,7,10,14,17,20,23-Octaazacyclohexacosan-N, N', N'', N''', N'''', N''''', N''''''-octaessigsäure.
8. Pharmazeutische Mittel, enthaltend mindestens eine Verbindung gemäß Anspruch 1 - 7 in einem physiologisch verträglichen Medium, gegebenenfalls mit den in der Galenik üblichen Zusätzen.
9. Pharmazeutische Mittel nach Anspruch 8 enthaltend Calcium-, Magnesium- oder Zinksalze bzw. Komplexe in einer Menge von 0,05 bis 2 mol/l.
10. Verwendung eines Metallkomplexes nach Anspruch 1 enthaltend als Metallion(en) ein Gd-, Eu-, Yb-, Dy-, Fe-, Mn-, Ru-, Ba-, oder Bi-Ion zur Herstellung eines Mittels für die NMR- oder Röntgen-Diagnostik.
11. Verwendung eines Metallkomplexes nach Anspruch 1 enthaltend als Metallion(en) ein (oder zwei) ^{64}Cu -, ^{90}Y -, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -, ^{111}In -, ^{158}Gd -, ^{169}Yb oder ^{212}Bi -Ion(en) zur Herstellung eines Mittels für die Radiodiagnostik, -therapie oder der Strahlentherapie.
12. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man ein cyclisches Amin der Formel IV



mit einer Verbindung $\text{Hal-CHR}^1\text{-COOY}$, worin Hal für ein Halogenatom und Y für Wasserstoff oder eine Säureschutzgruppe steht, carboxymethyliert,

5 gegebenenfalls die Säureschutzgruppe anschließend abspaltet und gegebenenfalls mit Metallsalzen, Metalloxiden oder Organometalloxyverbindungen umsetzt.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No
PCT/EP 95/00124A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 C07D259/00 A61K49/00 C07F9/6524 //C07M5:00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 C07D A61K C07F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP,A,0 197 437 (KONISHIROKU PHOTO INDUSTRY CO. LTD.) 15 October 1985 see page 12, Formula A-9 and page 15 Formula B-9 ---	1
Y	WO,A,93 12097 (BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM) 24 June 1993 see the whole document ---	1-12
Y	WO,A,92 08725 (BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM) 29 May 1992 see the whole document -----	1-12



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

1 Date of the actual completion of the international search 15 March 1995	Date of mailing of the international search report 29 / 03 / 95
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016	Authorized officer Beslier, L

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

 International Application No
 PCT/EP 95/00124

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP-A-0197437	15-10-86	JP-C-	1709172	11-11-92
		JP-B-	3076735	06-12-91
		JP-A-	61226751	08-10-86
		AU-A-	5526686	02-10-86
		US-A-	4702998	27-10-87
WO-A-9312097	24-06-93	US-A-	5316757	31-05-94
		AU-B-	2912492	19-07-93
		CA-A-	2125773	24-06-93
		CN-A-	1073680	30-06-93
		EP-A-	0618910	12-10-94
		PT-A-	101123	28-02-94
WO-A-9208725	29-05-92	US-A-	5342606	30-08-94
		AU-B-	654987	01-12-94
		AU-A-	9077091	11-06-92
		CA-A-	2095615	20-05-92
		CN-A-	1066073	11-11-92
		EP-A-	0558661	08-09-93
		FI-A-	932231	17-05-93
		HU-A-	64768	28-02-94
		JP-T-	6502645	24-03-94
		NZ-A-	240626	25-11-94
		US-A-	5188816	23-02-93
		US-A-	5316757	31-05-94
		US-A-	5362476	08-11-94

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int. nationales Aktenzeichen
PCT/EP 95/00124

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 C07D259/00 A61K49/00 C07F9/6524 //C07M5:00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprästoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 C07D A61K C07F

Recherchierte aber nicht zum Mindestprästoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP,A,0 197 437 (KONISHIROKU PHOTO INDUSTRY CO. LTD.) 15. Oktober 1985 siehe Seite 12, Formel A-9 und Seite 15, Formel B-9 ---	1
Y	WO,A,93 12097 (BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM) 24. Juni 1993 siehe das ganze Dokument ---	1-12
Y	WO,A,92 08725 (BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM) 29. Mai 1992 siehe das ganze Dokument -----	1-12



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchebericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

1

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Anmeldedatum des internationalen Rechercheberichts

15. März 1995

29 / 03 / 95

Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Beslier, L

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 95/00124

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
EP-A-0197437	15-10-86	JP-C-	1709172	11-11-92
		JP-B-	3076735	06-12-91
		JP-A-	61226751	08-10-86
		AU-A-	5526686	02-10-86
		US-A-	4702998	27-10-87
WO-A-9312097	24-06-93	US-A-	5316757	31-05-94
		AU-B-	2912492	19-07-93
		CA-A-	2125773	24-06-93
		CN-A-	1073680	30-06-93
		EP-A-	0618910	12-10-94
		PT-A-	101123	28-02-94
WO-A-9208725	29-05-92	US-A-	5342606	30-08-94
		AU-B-	654987	01-12-94
		AU-A-	9077091	11-06-92
		CA-A-	2095615	20-05-92
		CN-A-	1066073	11-11-92
		EP-A-	0558661	08-09-93
		FI-A-	932231	17-05-93
		HU-A-	64768	28-02-94
		JP-T-	6502645	24-03-94
		NZ-A-	240626	25-11-94
		US-A-	5188816	23-02-93
		US-A-	5316757	31-05-94
		US-A-	5362476	08-11-94